



7^{mo} Congreso de Medio Ambiente

Actas 7mo Congreso de Medio Ambiente AUGM
22 al 24 de mayo de 2012. UNLP. La Plata Argentina

CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES (COPS) EN LECHE MATERNA DE CENTROS URBANOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

**Persistent organic pollutants (POPs) in breast milk of urban centers of Buenos
Aires province**

Lara S Della Ceca ^a, Carolina Migoya ^a, Natalia Capelletti ^a, Graciela Gomez ^b, Diego Arozamena ^b, Madelón Sobral ^b, Julia H Piñero ^c, Marisa Soimer ^c, Nerisa Bosco ^c, Elvira Perez ^c, Osvaldo Gluzman ^c, Maria A. Rosa ^c, Mariela Lopez ^d, Juan C Colombo ^a *

^a Laboratorio de Química Ambiental y Biogeoquímica (LAQAB), Universidad Nacional de La Plata, Av Calchaqui km 23.5, Florencio Varela, Buenos Aires, Argentina.

laqab@intervar.com.ar

^b Secretaría de Salud, Municipio de Ensenada. Calle San Martín y Calle de La Paz (ex Estados Unidos), Ensenada, Buenos Aires, Argentina. salud@ensenada.gov.ar

^c Hospital General de Agudos "Dr. C. Argerich", Py y Margall 750, La Boca, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

^d Secretaría de Salud del Municipio de Florencio Varela, calle 12 de Octubre 363, Florencio Varela, Buenos Aires, Argentina.

*Autor para correspondencia: : +54 011 42758266. laqab@intervar.com.ar

Palabras clave: bifenilos policlorados, pesticidas organoclorados.

Keywords: polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides.

Título abreviado: Contaminantes orgánicos persistentes en leche materna

ABSTRACT

Due to their chemical persistence and high lipophilicity, persistent organic pollutants (POPs) have a tendency to accumulate and biomagnify in the food chain. Because of its easy and noninvasive collection, and high fat content, human milk, is a good indicator of these residues in human populations. The aim of our study was to evaluate human exposure to POPs (PCBs, DDTs and its metabolites, α , β y γ HCHs, CHLDs: heptachlor, heptachlor epoxide, trans and cis chlordanes and nonachlors) in 59 human milk samples collected during 2010-2011 in Punta Lara, Ensenada, Florencio Varela and Capital Federal.

Human breast milk was collected with manual breast pumps, centrifuged to separate the cream that was freeze-dried and ultrasonically extracted with petroleum ether. The extracts, previously treated with sulfuric acid to eliminate lipids, were cleaned up by silica gel chromatography and analyzed by gas chromatography.

POPs levels, in nanogram/gram lipids, decreased from DDTs (76 ± 91) \approx PCBs (67 ± 64) $>$ HCHs (33 ± 36) \geq CHLDs (22 ± 24). DDTs ranged between 7.7-510 ng.g⁻¹ lipids and PCBs between 5-247 ng.g⁻¹ lipids, comparable with the lowest values reported in literature (DDTs Norway: 39-292 ng.g⁻¹ lípido; PCBs Vietnam: 26-210 ng.g⁻¹, Japan: 23-370 ng.g⁻¹). HCHs and CHLDs ranged between 5.8-197 ng.g-1 lipids and 1.3-124 ng.g-1 lipids respectively, similar to intermediate values reported for other areas (HCHs Indonesia 1.6-120 ng.g⁻¹; CHLDs 3.4-92 ng.g⁻¹). POP composition in the breast milk samples is relatively conservative, with a predominance of metabolites (i.e. DDE: 90 ± 17 % Σ DDTs; heptachlor epoxide: $50 \pm 18\%$ and t-nonachlordane: $34 \pm 13\%$ Σ CHLDs) and the most persistent isomers and congeners of each group (β -HCH: $67 \pm 25\%$ Σ HCHs; PCBs 153: $27 \pm 8\%$, 138: $21 \pm 9\%$, 118: $13 \pm 9\%$ y 180: $12 \pm 6\%$ Σ PCBs).

RESUMEN

Los COPs se acumulan en matrices ricas en materia grasa como la leche materna, que es un buen indicador de sus niveles en poblaciones humanas debido a su fácil y no invasiva extracción. Con el objeto de evaluar la exposición a COPs en la provincia de Buenos Aires y compararla con otras áreas, se analizaron bifenilos policlorados (PCBs), diclorodifeniltricloroetano (DDT) y sus metabolitos (DDT, TDE), hexaclorociclohexanos (α , β y γ -HCH) y clordanos (CHLDs: heptaclor y su epóxido,

trans y cis clordanos y nonaclors) en muestras de leche materna colectadas durante 2010 y 2011 en Punta Lara, Ensenada, Florencio Varela y Capital Federal.

Las muestras fueron colectadas con sacaleches manuales, centrifugadas para separar la crema que fue liofilizada y extraída con éter de petróleo y ultrasonido. Los extractos previamente tratados con ácido para eliminación parcial de lípidos, fueron purificados por cromatografía en gel de sílice y analizados por cromatografía gaseosa.

Las concentraciones de COPs en ng.g^{-1} lípido decrecieron en el orden DDTs (76 ± 91) \approx PCBs (67 ± 64) $>$ HCHs (33 ± 36) \geq CHLDs (22 ± 24). Los DDTs oscilaron entre 7.7-510 ng.g^{-1} lípido y los PCBs entre 5-247 ng.g^{-1} lípido, estos valores son comparables al rango más bajo reportado en la literatura (DDTs Noruega: 39-292 ng.g^{-1} lípido; PCBs Vietnam: 26-210 ng.g^{-1} , Japón: 23-370 ng.g^{-1}). En cambio, las concentraciones de HCHs y CHLDs, que oscilaron entre 5.8-197 ng.g^{-1} lípido y 1.3-124 ng.g^{-1} lípido respectivamente, corresponden al rango medio reportado para otras áreas (HCHs Indonesia 1.6-120 ng.g^{-1} ; CHLDs 3.4-92 ng.g^{-1}). La composición de residuos en la leche materna es relativamente conservativa para cada clase de COPs, así se observa uniforme predominancia de productos de degradación (p.ej. DDE: $90\pm 17\%$ de Σ DDTs; epóxido de heptaclor: $50\pm 18\%$ y t-nonaclordano: $34\pm 13\%$ de Σ CHLDs) y los isómeros y congéneres más persistentes (β -HCH: $67\pm 25\%$ de Σ HCHs; PCBs 153: $27\pm 8\%$, 138: $21\pm 9\%$, 118: $13\pm 9\%$ y 180: $12\pm 6\%$ de Σ PCBs).

INTRODUCCIÓN

Los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) son un grupo de compuestos xenobióticos de alta resistencia a la degradación, volatilidad intermedia, baja solubilidad en agua y alta lipofilidad. Debido a la toxicidad de estos compuestos se celebró el Convenio Internacional de Estocolmo, suscripto por nuestro país y ratificado en el año 2004, que obliga a su eliminación (www.pops.int; www.chem.unep.ch/pops).

Los COPs son dispersados globalmente a través de la atmósfera y transportados con el material particulado en los sistemas acuáticos a sitios alejados de las fuentes de emisión. Se bioacumulan en los organismos y biomagnifican en las redes tróficas (Goerke *et al.*, 2004).

Exceptuando a la exposición ocupacional o en cercanías a las fuentes donde las vías dérmica e inhalatoria pueden ser importantes (Wingfors *et al.*, 2006), la principal vía de exposición a COPs de las poblaciones humanas es la alimentación (Leng *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2010). Debido a su elevada lipofilicidad, los COPs son absorbidos junto con los lípidos en el estómago con una eficiencia del 95%, transportados en quilomicrones por el sistema circulatorio y linfático, parcialmente metabolizados por el hígado y distribuidos a los distintos tejidos donde se acumularán según su contenido lipídico (Andreas Moser & McLachlan, 2001).

Durante la lactancia, los COPs acumulados en el tejido adiposo son removidos junto con los lípidos que se utilizan para la síntesis de leche. De esta manera, la leche materna es una vía de transferencia directa de COPs para el neonato que se ve así expuesto tempranamente a residuos potencialmente peligrosos (WHO, 2003).

El objetivo de este trabajo es evaluar los niveles y caracterizar la composición de COPs (PCBs, DDTs, HCHs y CHLDs) en leche de madres de la provincia de Buenos Aires y evaluar la relación de los niveles de COPs con variables socio-económico-demográficas.

METODOLOGÍA

Las muestras de leche (n= 59) se colectaron con sacaleches manuales en centros de asistencia primaria de salud de Punta Lara (n= 14), Ensenada (n= 3), Florencio Varela (n= 18) y el Hospital Dr Cosme Argerich de Capital Federal (n= 24). Paralelamente se completó una encuesta con datos biológicos del neonato (edad, peso al nacer) y la madre (edad, peso, altura, número de hijos, consumo de cigarrillo, hábitos alimenticios) y datos socio económicos de la madre (lugar de residencia de los últimos 5 años, nivel de educación, ocupación).

El procesamiento inicial incluyó el descongelamiento y centrifugación de las muestras para separar la fase cremosa lipídica que se congeló y liofilizó. La extracción de los lípidos de la crema liofilizada se realizó con éter de petróleo y tratamiento ultrasónico. El contenido lipídico se determinó por gravimetría.

Los extractos, se trataron con ácido sulfúrico para la eliminación parcial de lípidos y se concentraron a 0,5 ml para realizar su fraccionamiento por cromatografía en columna de gel de sílice neutro. Eluyendo con 5 ml de éter de petróleo se separaron los bifenilos policlorados y posteriormente, con 5 ml de éter de petróleo-cloruro de metileno (2:1), los pesticidas organoclorados (DDTs, HCHs y CHLDs). Estas fracciones se concentraron a 500 µl bajo nitrógeno para su análisis.

El análisis de los PCBs y pesticidas organoclorados se realizó por cromatografía gaseosa utilizando un detector de captura electrónica (Agilent 6890N y Agilent 7890N). Se identificaron 48 congéneres de PCBs y los pesticidas organoclorados DDT y sus

metabolitos DDE y TDE; α , β , γ y δ hexaclorociclohexanos; heptaclor y su epóxido, trans y cis clordanos y nonaclors por comparación de los tiempos de retención con los obtenidos de estándares auténticos (C-QME-01 Accustandard Inc.y M-680P Pesticide Mix AccuStandar Inc.).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de correlación para comprobar relaciones entre la concentración de contaminantes y las variables socioeconómicas y biológicas. Para evaluar las diferencias entre las medias se utilizó el test de Tukey con un nivel de significancia de $p > 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de las encuestas realizadas se presentan en la Tabla 1. Se observan diferencias en el consumo de cigarrillo, porcentaje de amas de casa, paridad y tiempo de amamantamiento entre las donantes de Ciudad de Buenos Aires con respecto a las de Florencio Varela y Punta Lara-Ensenada. En contraste, las concentraciones de COPs no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los sitios de muestreo. Por lo tanto, la población estudiada constituye un grupo relativamente homogéneo en cuanto a los niveles de COPs y los resultados presentados corresponden al promedio del total de muestras obtenidas.

Tabla 1. Parámetros biológicos y socio-económicos de las donantes por sitio de muestreo.

Table 1. Biological and socio economic parameters of donors by site.

PARÁMETRO	Florencio Varela	Punta Lara- Ensenada	Ciudad Buenos Aires
media (rango)	n= 18	n= 17	n= 24
Edad (años)	24 (17-38)	23 (17-36)	24 (14-38)
Altura (cm)	159 (150-175)	155 (145-168)	160 (150-172)
Peso (kg)	67 (46-92)	57 (40-88)	63 (47-85)
Lípidos en leche (%)	2.3 (0.6-5.1)	2.2 (0.36-5.5)	2.4 (0.6-6.6)
Número de hijos	2 (1-6)	2 (1-4)	2 (1-4)
Paridad	44 % primerizas	41 % primerizas	71 % primerizas
Ocupación	78 % ama de casa	76 % ama de casa	37 % ama de casa
Fumadoras	22%	41%	8%
Edad neonato (semanas)	16 (4-52)	21 (4-52)	7 (2-37)
Peso al nacer (kg.)	3.484 (2.650-4.500)	3.277 (2.500-3.900)	3.222 (1.945-4.100)

Las concentraciones de COPs en la leche materna decrecen en el orden DDTs \approx PCBs > HCHs \geq CHLDs (Figura 1).

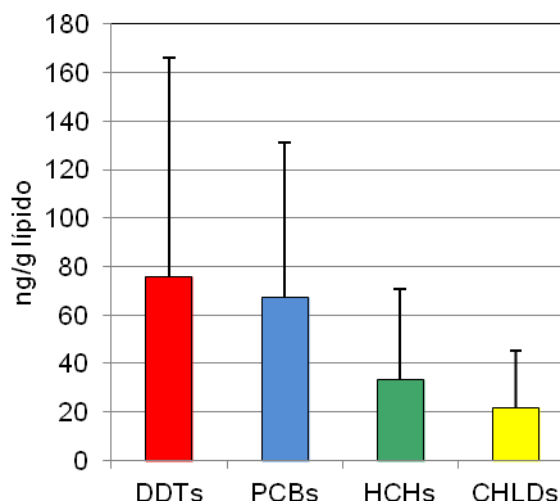


Figura 1. Niveles de COPs en leche materna de la provincia de Buenos Aires.

Figure 1. POPs levels in breast milk from Buenos Aires province.

Los valores de PCBs encontrados en leche materna de la provincia de Buenos Aires varían entre 22-258 ng.g⁻¹ lípido (media \pm desvío: 75 \pm 57), estos niveles son comparables al rango bajo de PCBs reportado en la literatura para otras áreas (Figura 2.a; Kalantzi *et al.*, 2004; Tsydenova *et al.*, 2007; Szyrwinska & Lulek, 2007; Polder *et al.*, 2009; Tue *et al.*, 2010).

Los niveles de DDTs oscilaron entre 7.7-500 ng.g⁻¹ lípido (76 \pm 91) y son muy bajos comparados con los valores reportados en la literatura (Figura 2.b; Paumgartten *et al.*, 2000; Kalantzi *et al.*, 2004; Minh *et al.*, 2004; Jaraczewska *et al.*, 2006; Kunisue *et al.*, 2006; Azeredo *et al.*, 2008; Kalantzi *et al.*, 2004; Kunisue *et al.*, 2006; Polder *et al.*, 2009).

A diferencia de los PCBs y DDTs, los niveles de HCHs en leche materna de la Provincia de Buenos Aires son más elevados (rango: 5.8-197, media: 33 \pm 37 ng.g⁻¹ lípido) y CHLDs (rango:1.3-124, media: 22 \pm 24 ng.g⁻¹ lípido) comparables al rango medio reportado en la literatura (Figura 2.c y 2.d; Minh *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2006; Sudaryanto *et al.*, 2006; Szyrwinska and Lulek, 2007; Polder *et al.*, 2008; Cerná *et al.*, 2010).

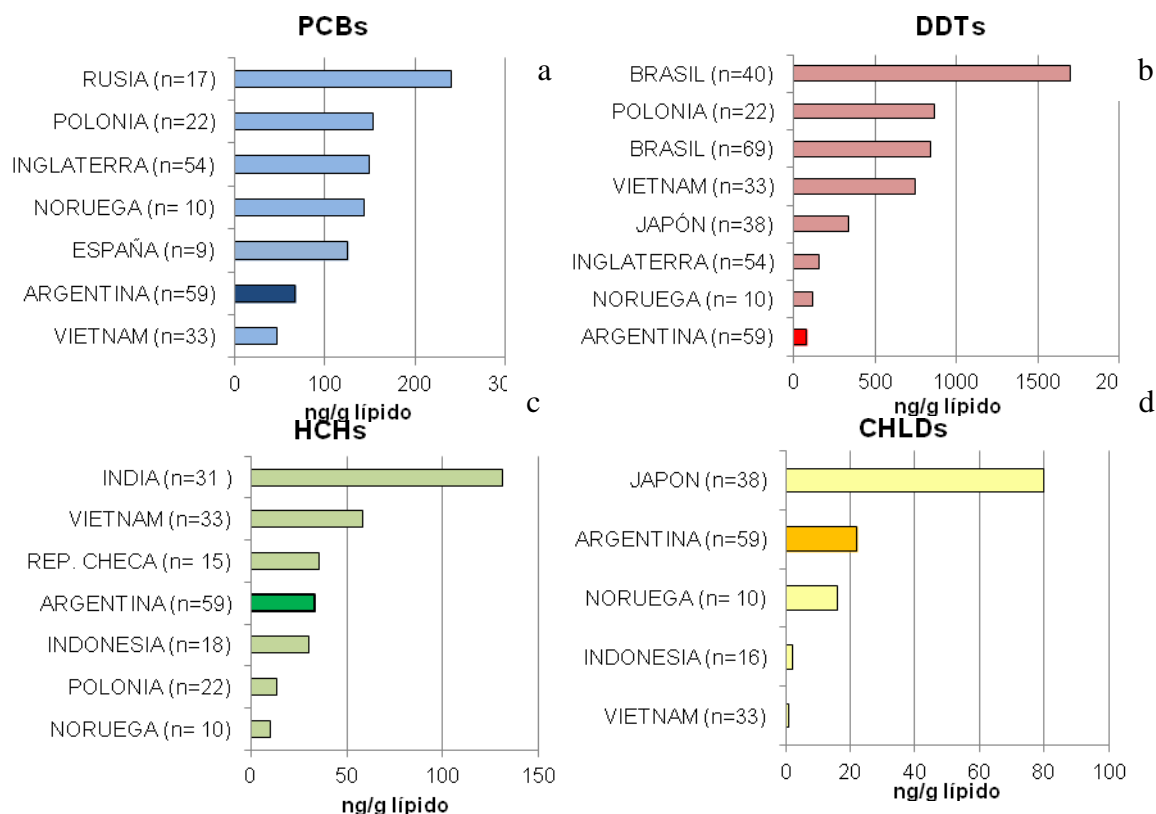


Figura 2. Niveles de COPs en leche materna de Buenos Aires (Argentina, n=59) en comparación con los reportados para otras áreas.

Figure 2. POPs levels in breast milk of Buenos Aires (Argentina, n=59) in comparison with levels reported for other areas.

La composición de PCBs presenta una clara predominancia de los congéneres más persistentes, con mayor proporción de penta (118: $13\pm 9\%$), hexa (138: $21\pm 9\%$; 153: $27\pm 8\%$) y heptaclorados (180: $20\pm 5.9\%$) y baja proporción de los tri y tetraclorados. Esta señal coincide con los datos reportados en la literatura, reflejando la persistencia metabólica de los PCBs de mayor peso molecular y cloración que no poseen protones adyacentes en las posiciones meta-para. (Figura 3; She *et al.*, 1998; Paumgartten *et al.*, 2000; Cerná *et al.*, 2010).

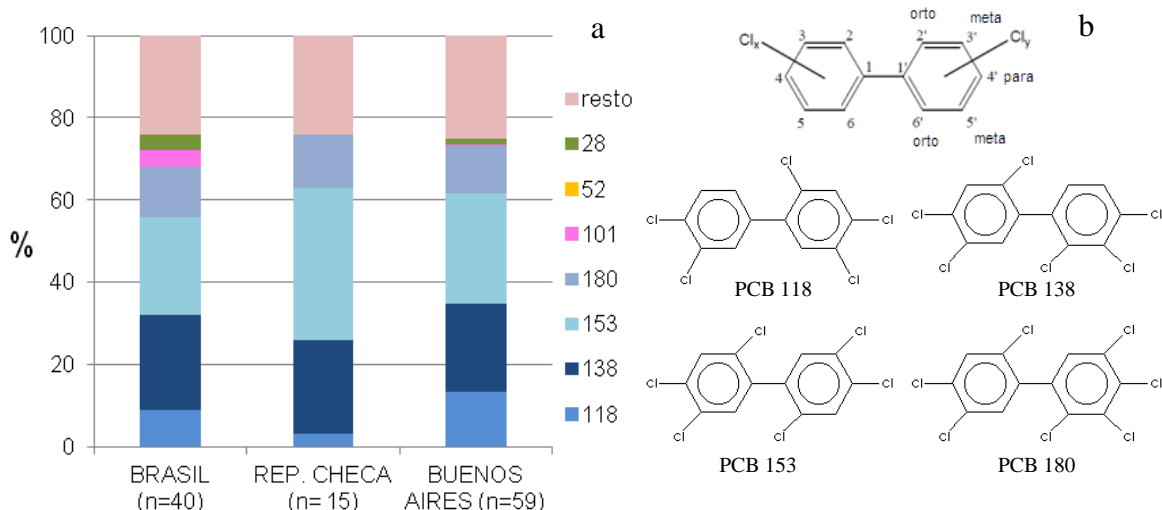


Figura 3. Composición de congéneres de PCBs en leche materna en Buenos Aires y comparación con otras áreas (a); estructura química básica de PCBs y congéneres más persistentes (b).

Figure 3. PCBs congener composition in breast milk of Buenos Aires compared with other areas (a); basic chemical structure of PCBs and most persistent congeners (b).

Entre los DDTs predominó, en todas las muestras, el producto de degradación DDE (90 ± 17 ; Fig. 4), que es el principal metabolito del DDT. Esto es consistente con la mayor lipofilicidad, y por lo tanto mayor bioacumulación en tejidos grasos, del DDE con respecto al DDT y TDE (ATSDR, 2000).

La composición de HCHs (Figura 4) muestra un enriquecimiento de β -HCH ($68 \pm 25\%$) y menor proporción de los isómeros γ -HCH ($27 \pm 21\%$) y α -HCH ($3 \pm 7\%$), en contraste con las mezclas técnicas (α -HCH 60–70%, β -HCH 5–12%, γ -HCH 10–15%).

La composición de CHLDs presenta predominancia de epóxido de heptaclor ($50 \pm 18\%$), producto de degradación de heptaclor, y t-nonaclor ($34 \pm 13\%$; Figura 4). Al igual que en los HCHs, estas proporciones son contrastantes con la composición de las mezclas técnicas (nonaclors 7%, heptaclor 10%, nonaclors 7%, t-clordano 24%).

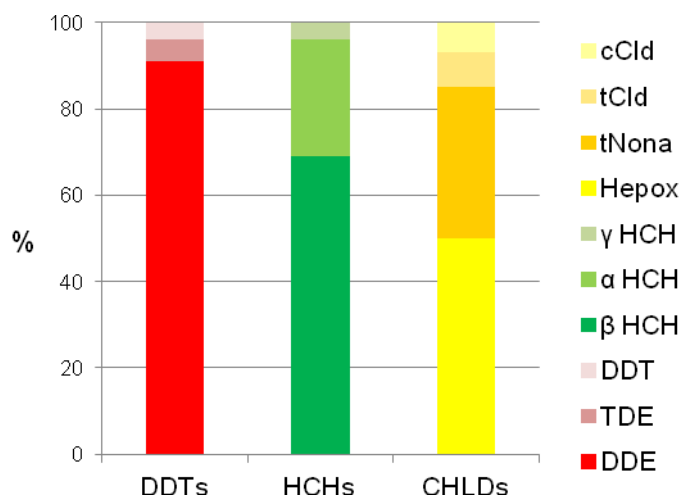


Figura 4. Composición de pesticidas organoclorados en leche materna de la provincia de Buenos Aires.

Figure 4. Organochlorine pesticides composition of breast milk from Buenos Aires province.

La amplia predominancia en las muestras de leche materna de algunos productos de degradación (DDE, epóxido de heptaclor, t-nonaclordano) e isómeros (β -HCH) de los plaguicidas organoclorados es evidencia de su mayor persistencia e indicio de acumulación histórica.

No se encontró diferencia significativa entre madres primerizas y no primerizas, ni correlación significativa entre edad, dieta, datos socio-demográficos y los niveles de PCBs y plaguicidas.

CONCLUSIONES

Las donantes de leche materna, provenientes de las distintas localidades de la provincia de Buenos Aires, presentan algunas diferencias en cuanto a parámetros socio-económicos y biológicos (consumo de cigarrillos, paridad, ocupación) pero muestran concentraciones relativamente homogéneas de COPs.

Los valores de PCBs detectados en leche materna de la provincia de Buenos Aires se hallan dentro del rango bajo y los DDTs dentro de los valores muy bajos reportados en la literatura para otros países, mientras que valores de HCHs y CHLDs se hallan dentro del rango medio lo que podría reflejar su uso doméstico (CHLD) o aplicación directa (HCHs).

La composición de COPs en leche materna de la Provincia de Buenos Aires muestra predominancia de productos de degradación (DDE, epóxido de heptaclor y t-nonaclordano) y los isómeros y congéneres más persistentes (β -HCH, PCBs penta-hexaclorados 180, 138, 118 y 153), consistente con lo observado en otras áreas. Esto refleja la mayor estabilidad de estos productos y su elevado potencial de magnificación trófica.

BIBLIOGRAFÍA

- Andreas Moser G & McLachlan MS. 2001. The influence of dietary concentration on the absorption and excretion of persistent lipophilic organic pollutants in the human intestinal tract. *Chemosphere* 45, 201-211

- ATSDR. 2000. *Toxicological profile of DDT, DDE and DDD*. U.S. Department of health and human services. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Azeredo A, Torres JPM, de Freitas Fonseca M, Britto JL, Bastos WR, Azevedo e Silva CE, Cavalcanti G, Meire RO, Sarcinelli PN, Claudio L, Markowitz S & Malm O. 2008. DDT and its metabolites in breast milk from the Madeira River basin in the Amazon, Brazil. *Chemosphere*, 73: S246-S251
- Cerná M, Bencko V, Brabec M, Smíd J, Krsková A & Jech L., 2010. Exposure assessment of breast-fed infants in the Czech Republic to indicator PCBs and selected chlorinated pesticides: Area-related differences. *Chemosphere* 78: 160-168
- Goerke H, Weber K, Bornemann H, Ramdohr S & Plötz J. 2004. Increasing levels and biomagnification of persistent organic pollutants (POPs) in Antarctic biota. *Marine Pollution Bulletin* , 48: 295-302
- Jaraczewska K, Lulek J, Covaci A, Voorspoels S, Kaluba-Skotarczak A, Drews K & Schepens P. 2006. Distribution of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides and polybrominated diphenyl ethers in human umbilical cord serum, maternal serum and milk from Wielkopolska region, Poland. *Science of The Total Environment*, 372: 20-31
- Kalantzi OI, Martin FL, Thomas GO, Alcock RE, Tang HR, Drury SC, Carmichael PL, Nicholson JK & Jones KC. 2004. Different Levels of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) and Chlorinated Compounds in Breast Milk from Two U.K. Regions. *Environmental Health Perspectives*, 112: 1085-1091

- Kumar A, Dayal P, Shukla G, Singh G & Joseph PE. 2006. DDT and HCH residue load in mother's breast milk: A survey of lactating mother's from remote villages in Agra region. *Environment International*, 32: 248-251
- Kunisue T, Muraoka M, Ohtake M, Sudaryanto A, Minh NH, Ueno D, Higaki Y, Ochi M, Tsydenova O, Kamikawa S, Tonegi T, Nakamura Y, Shimomura H, Nagayama J & Tanabe S. 2006. Contamination status of persistent organochlorines in human breast milk from Japan: Recent levels and temporal trend. *Chemosphere*, 64: 1601-1608
- Leng J-H, Kayama F, Wang P-Y, Nakamura M, Nakata T & Wang Y. 2009. Levels of persistent organic pollutants in human milk in two Chinese coastal cities, Tianjin and Yantai: Influence of fish consumption. *Chemosphere* 75: 634-639
- Minh NH, Someya M, Minh TB, Kunisue T, Iwata H, Watanabe M, Tanabe S, Viet PH & Tuyen BC. 2004. Persistent organochlorine residues in human breast milk from Hanoi and Hochiminh City, Vietnam: contamination, accumulation kinetics and risk assessment for infants. *Environmental Pollution*, 129: 431-441
- Paumgartten FJR, Cruz CM, Chahoud I, Palavinskas R & Mathar W. 2000. PCDDs, PCDFs, PCBs, and Other Organochlorine Compounds in Human Milk from Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Research*, 83: 293-297
- Polder A, Skaare JU, Skjerve E, Løken KB & Eggesbø M. 2009. Levels of chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in Norwegian breast milk (2002-2006), and factors that may predict the level of contamination. *Science of The Total Environment*, 407; 4584-4590
- Polder A, Thomsen C, Lindström G, Løken KB & Skaare JU. 2008. Levels and temporal trends of chlorinated pesticides, polychlorinated biphenyls and

- brominated flame retardants in individual human breast milk samples from Northern and Southern Norway. *Chemosphere*, 73: 14-23
- She J, Petreas MX, Visita P, McKinney M, Sy FJ, Winkler JJ, Hooper K & Stephens RD. 1998. Congener-specific analysis of PCBs in human milk from Kazakhstan. *Chemosphere*, 37: 431-442
 - Sudaryanto A, Kunisue T, Kajiwarra N, Iwata H, Adibroto TA, Hartono P & Tanabe S. 2006. Specific accumulation of organochlorines in human breast milk from Indonesia: Levels, distribution, accumulation kinetics and infant health risk. *Environmental Pollution* 139: 107-117
 - Sun S, Zhao J, Leng J, Wang P, Wang Y, Fukatsu H, Liu D, Liu X & Kayama F. 2010. Levels of dioxins and polybrominated diphenyl ethers in human milk from three regions of northern China and potential dietary risk factors. *Chemosphere*, 80. 1151-1159
 - Szyrwinska K & Lulek J. 2007. Exposure to specific polychlorinated biphenyls and some chlorinated pesticides via breast milk in Poland. *Chemosphere*, 66. 1895-1903
 - Tsydenova OV, Sudaryanto A, Kajiwarra N, Kunisue T, Batoev VB & Tanabe S. 2007. Organohalogen compounds in human breast milk from Republic of Buryatia, Russia. *Environmental Pollution* 146: 225-232
 - Tue NM, Sudaryanto A, Minh TB, Nhat BH, Isobe T, Takahashi S, Viet PH & Tanabe S. 2010. Kinetic differences of legacy organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in Vietnamese human breast milk. *Chemosphere*, 81: 1006-1011

- WHO. 2003. Health risks of persistent organic pollutants from long-range transboundary air pollution. *Joint WHO/Convention task force on the health aspects of air pollution*.
- Wingfors H, Seldén AI, Nilsson C & Haglund P. 2006. Identification of markers for PCB exposure in plasma from Swedish construction workers removing old elastic sealants. *Annals of Occupational Hygiene*, 50: 65-73
- www.pops.int
- www.chem.unep.ch/pops